

3. Поиск и разработка активаторов системной приобретенной устойчивости растений как средств защиты от фитопатогенов / Т.А. Калинина, О.А. Высокова, А.А. Кочубей и др. // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 г.). Томск. 2018. С. 57–59.

УДК 581.2+581.4

О.Е. Черепанова¹, О.А. Высокова²,
Н.В. Лукьянина², Т.А. Калинина², Т.В. Глухарева^{2,3}

¹ФГБУН Ботанический сад УрО РАН,
620144, Россия, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а,*
botgarden.Olga@gmail.com

²Уральский федеральный университет
им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

³Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН,
620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22/20

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ ВЕРЕСКА ОБЫКНОВЕННОГО (*CALLUNA VULGARIS* (L.) HULL)*

Применение современных биотехнологий ускоренного размножения в условиях *in vitro* может стать стратегией сохранения популяций редких и лекарственных растений, а также генофонда в целом.

Используя различные методы *in vitro*, также целесообразно получать в промышленных масштабах биомассы культуры клеток и тканей лекарственно ценных видов с программируемым содержанием биологически активных веществ, сокращая сборы растений из природных экосистем [1].

Вереск обыкновенный *C. vulgaris*, имеющий широкий ареал распространения (от Азорских островов до Южного Зауралья) и внесенный в региональные Красные книги [2, 3], находится в перечне лекарственных растений.

Популяции вереска, произрастающие на границе ареала (Западная Сибирь), разрознены и малочисленны. Таким образом, оптимизация методов получения культуры ткани *in vitro* *C. vulgaris* позволит изучать фармакологический состав растения, создавать плантационные культуры, не нанося существенный урон природным популяциям.

Для получения каллусов различных культур используют среды Мурасиге – Скуга с добавлением известных регуляторов роста. Ранее в ряду производных 1,2,3-триазоло[1,5-b][1,3,4]тиадиазинов нами были обнаружены соединения, способные стимулировать прорастание семян сосны обыкновенной [4].

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 16-16-04022.

© Черепанова О.Е., Высокова О.А., Лукьянина Н.В., Калинина Т.А., Глухарева Т.В., 2018

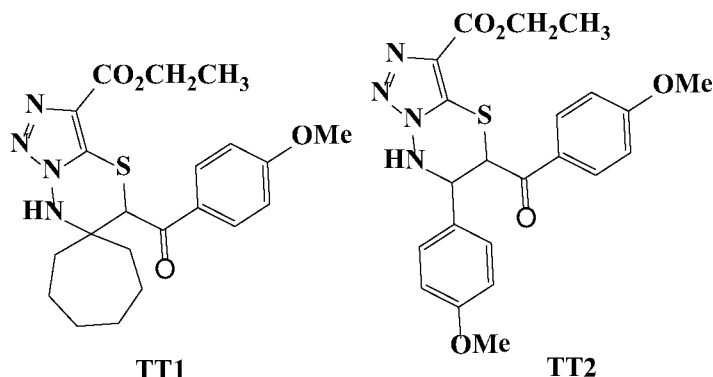


Рис. 1. Производные 1,2,3-триазоло[1,5-*b*][1,3,4]тиадиазинов, используемые для приготовления сред Мурасиге – Скуга

В связи с этим целью настоящей работы являлось получение каллусных культур *S. vulgaris* с использованием синтезированных регуляторов роста (рис. 1) и их последующий цитологический анализ.

Материалы и методы. Для получения жизнеспособной культуры клеток были использованы зрелые семена из Курганской области (пос. Красный Октябрь). Для проращивания на среде было отобрано по 1000 шт. семян для каждого варианта среды. Используемые семена находились в стадии физиологической зрелости и до посева на среду *in vitro* хранились при температуре +4 °С.

Предварительно очищенные семена стерилизовали по следующей схеме: спирт 70%-й 1 минута; 20%-й раствор гипохлорида натрия («Белизна» в разбавлении 1:3); для последующей отмывки использовали дистиллированную воду (3 раза по 10 минут). Посадка в пробирки диаметром 14 мм и высотой 120 мм с 10 мл среды по 10–15 шт. семян в каждую пробирку. Размножение проводили при температуре 21 °С и фотопериоде 16/8. При введении в культуру использовались стандартные методики, принятые в работах по биотехнологии [5].

Среды Мурасиге – Скуга готовили с добавлением синтезированных 1,2,3-триазоло[1,5-*b*][1,3,4]тиадиазинов TT1 и TT2 [6] в концентрации 5 мг/л и 10 мг/л.

Результаты. Введение в среду *in vitro* различных регуляторов роста и их соотношение – факторы, определяющие успешность развития культуры клеток и последующую динамику ее роста [7]. В первом пассаже рост культуры был слабым, цвет в вариантах мало отличался. Все каллусы имели бледно-зеленую окраску.

К шестому пассажу удалось получить во всех трех вариантах стабильно растущую культуру клеток. В контроле отмечено минимальное образование потемневших участков, лишь в единичных вариантах развивался ризогенез.

В линии TT1 лучший результат отмечен нами в концентрации 5 мг/л. Окраска рыхлого по своей структуре каллуса варьировалась от желтой до светло-зеленой, местами с потемневшими коричневыми участками, в массе на каллусах шло образование корней. В линии TT2 также лучший результат отмечен нами в концентрации 5 мг/л. Здесь каллусы образовывались плотной структуры

насыщено темно-зеленого цвета. Ризогенез отмечен единично, в некоторых вариантах встречается формирование вегетативных побегов. В линиях ТТ1 и ТТ2 в концентрациях 10 мг/л скорость роста к шестому пассажу несколько снизилась, каллусы имели бурую окраску. Возможно, массовость ризогенеза в исследуемых линиях и контроле можно объяснить тем, что точкой формирования каллуса как раз и становилась чаще всего меристема молодого корня.

Таким образом, в ходе проведенного эксперимента нами были получены культуры клеток вереска, морфологически отличающиеся между собой. Наиболее перспективным веществом для получения активно фотосинтезирующей массы клеток и формирующих вегетативные побеги можно назвать вещество ТТ2 в концентрации 5 мг/л.

Список литературы

1. Батыгина Т. Б., Титова Г. Е., Васильева В. Е. Репродукция растений: теоретические разработки и инновационные технологии // Инновации. 2007. № 20 (100). С. 39–46.
2. Большаков В. Н., Горчаковский П. Л. Красная книга Среднего Урала (Свердловская и Пермская области). Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды редких животных и растений : справочник. Екатеринбург, 1996. 279 с.
3. Бакланов М. А. Красная книга пермского края / под общ. ред. А. И. Шепеля. Пермь, 2008. 255 с.
4. The effect of ethyl 5'-(4-methoxybenzoyl)-5',7'-dihydrospiro[cyclopentane-1,6'-[1,2,3]triazolo[5,1-b][1,3,4]thiadiazin]-3'-carboxylate on *Pinus sylvestris* L. seed germination / T. A. Kalinina, O. A. Vysokova, L. A. Khamidullina et al. // Agronomy Research. 2018. Vol. 16 (1). P. 103–112.
5. Чайко А. Л., Решетняк О. В., Куличенко И. Е. Культура клеток женьшеня японского *Panax japonicus* (var. *repens*) С. А. Мей: получение каллусной и суспензионной культур, оптимизация роста и анализ панаксозидов // Биотехнология. 1999. Т. 14, № 6. С. 51–55.
6. Kalinina T. A., Bystrykh O. A., Glukhareva T. V., Morzherin Y. Y. Transformation of 1,2,3-Thiadiazolyl Hydrazones as Method for Preparation of 1,2,3-Triazolo[5,1-b][1,3,4]thiadiazines // J. of Heterocyclic Chemistry. 2017. Vol. 54 (1). P. 137–146.
7. Сидякин А. И., Мустафаева У. Ю. Получение каллусных культур *Pulsatilla taurica* и их цитологический анализ // Материалы XLV Международ. науч.-практ. конф. «Инновации в науке» : сб. ст. Новосибирск, 2015. № 5. С. 42.